

# EUROPEAN PATENT OFFICE

## • Patent Abstracts of Japan

AN

PUBLICATION NUMBER : 2001029039

PUBLICATION DATE : 06-02-01

APPLICATION DATE : 16-07-99

APPLICATION NUMBER : 11202684

APPLICANT : POLA CHEM IND INC;

INVENTOR : FUKUSHIMA MAKOTO;

INT.CL. : A23L 1/30 A61K 7/00

TITLE : PURIFICATION OF ACTIVE INGREDIENT IN ROYAL JELLY

ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To raise the concentration of active ingredients in royal jelly and purify the active ingredients so that a more useful royal jelly is obtained by removing water-insoluble ingredients from the royal jelly and then removing high-molecular weight ingredients which are water-soluble ingredients.

SOLUTION: Water-insoluble ingredients are removed from royal jelly and high-molecular weight ingredients which are water-soluble ingredients are then removed to purify active ingredients in the royal jelly. A method for adding water to the royal jelly, centrifuging the resultant royal jelly and then providing the supernatant is preferred as the method for removing the water-insoluble ingredients. A method for filtering an aqueous solution through an ultrafiltration membrane for 70,000-150,000 molecular weight, affording a filtrate, then removing the filtered ingredients with an ultrafiltration membrane for 18,000-22,000 molecular weight and concentrating the residual part without passing through the ultrafiltration membrane is preferred as the method for removing the high-molecular weight water-soluble ingredients. A protein having 20,000-100,000 molecular weight which is one of the active ingredients in the royal jelly has antifatigue effects.

COPYRIGHT: (C)2001,JPO

AN

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-29039

(P2001-29039A)

(43) 公開日 平成13年2月6日 (2001.2.6)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テ-マ-ト\* (参考)

A 2 3 L 1/30

A 2 3 L 1/30

A 4 B 0 1 8

A 6 1 K 7/00

A 6 1 K 7/00

K 4 C 0 8 3

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平11-202684

(22) 出願日

平成11年7月16日 (1999.7.16)

(71) 出願人 000113470

ポ-ラ化成工業株式会社

静岡県静岡市弥生町6番48号

(72) 発明者 鎌倉 昌樹

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポ-ラ

化成工業株式会社戸塚研究所内

(72) 発明者 福田 寿之

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポ-ラ

化成工業株式会社戸塚研究所内

(72) 発明者 三谷 信

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポ-ラ

化成工業株式会社戸塚研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ローヤルゼリー中の有効成分の精製法

(57) 【要約】

【課題】 ローヤルゼリーの有している有効成分の濃度を高め、より有用なローヤルゼリー精製物の製造法を提供することを課題とする。

【解決手段】 ローヤルゼリーを1) 非水溶性成分を除く工程と、2) 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程とを必須の構成とした精製法で処理する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ローヤルゼリーの有効成分を濃縮する方法であって、1) 非水溶性成分を除く工程と、2) 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程とを必須の構成とすることを特徴とする、ローヤルゼリー中の有効成分の精製法。

【請求項2】 非水溶性成分を除く工程が、ローヤルゼリーに水を加え遠心分離し、上清を得る工程であることを特徴とする、請求項1に記載のローヤルゼリーの精製法。

【請求項3】 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程が、水性溶液を分子量70000～150000用の限外濾過膜で濾液を得ることを特徴とする、請求項1又は2に記載のローヤルゼリーの精製法。

【請求項4】 1) ローヤルゼリーに過剰の水を加え、遠心分離により、沈殿を取り除く第一工程と、2) 水性溶液を分子量70000～150000用の限外濾過膜で濾液を得る第二工程からなる、請求項1～3何れか一項に記載のローヤルゼリーの精製法。

【請求項5】 更に、分子量18000～22000用の限外濾過膜で、濾過成分を除き濃縮する工程を含むことを特徴とする、請求項1～4何れか一項に記載のローヤルゼリーの精製法。

【請求項6】 請求項1～5何れか一項に記載のローヤルゼリーの精製法に従って精製されたことを特徴とする、ローヤルゼリー精製物。

【請求項7】 請求項6に記載のローヤルゼリー精製物を含有することを特徴とする、抗疲労用の組成物。

【請求項8】 食品であることを特徴とする、請求項7に記載の抗疲労用の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ローヤルゼリーの精製法に関し、更に詳細には抗疲労効果などのローヤルゼリーの効果を高めるローヤルゼリーの精製法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】ローヤルゼリーが様々な薬理作用を有していることは既に知られており、この為、ローヤルゼリーを有効成分とする種々の健康食品が販売されている。このローヤルゼリーの有効成分としては、従来はデセン酸及び／又はその塩が知られていたが、デセン酸類の含有量と、薬効の強さに開きがあることは多くの研究者に認識されていたことであり、この様な有効成分の探索が行われてきたが、まだその正体は把握されていない。本発明者らは、この様な有効成分を求め鋭意研究を重ねた結果、分子量が20000～100000の蛋白にデセン酸類とは異なる、抗疲労効果を有する有効成分が存在することを見いだした。この様な蛋白の存在は、まだ知られていないし、この様な成分を効率よく精製する手段

も全く知られていない。

【0003】即ち、ローヤルゼリーの有している有効成分の濃度を高め、より有用なローヤルゼリー精製物の製造法の開発が望まれていたが、この様な方法はまだ知られていないのが現状であった。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、この様な状況下為されたものであり、ローヤルゼリーの有している有効成分の濃度を高め、より有用なローヤルゼリー精製物の製造法を提供することを課題とする。

## 【0005】

【課題の解決手段】この様な状況に鑑みて、本発明者らは、ローヤルゼリーの有している有効成分の濃度を高め、より有用なローヤルゼリー精製物の製造法を求めて鋭意研究努力を重ねた結果、ローヤルゼリー中の分子量20000～100000の蛋白分画に、優れた抗疲労作用を有する有効成分が存在することを見いだした。更に検討を重ねた結果、ローヤルゼリーを1) 非水溶性成分を除く工程と、2) 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程の2つの工程を経て処理することにより、前記抗疲労成分を高濃度に含むローヤルゼリー精製物を得ることができることを見だし、発明を完成させるに至った。以下、本発明について、実施の形態を中心に更に詳細に説明を加える。

## 【0006】

【発明の実施の形態】(1) 本発明のローヤルゼリーの精製法

本発明のローヤルゼリーの精製法は、ローヤルゼリーを、1) 非水溶性成分を除く工程と、2) 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程の2つの工程を経てしよりすることを特徴とする。これらの各工程について、個別に以下に説明する。

【0007】(非水溶性成分を除く工程) 本発明者らは、ローヤルゼリー中の有効成分を求めて研究を重ねた結果、ローヤルゼリー中に存在する、分子量が20000～100000の蛋白に優れた抗疲労効果があり、このものがローヤルゼリーの有効成分の一つであることを見いだした。このもの以外の近似の分子サイズを有する成分との大きな物性面での違いを求めて研究を重ねたところ、水に対する溶性が大きく異なることを見いだした。即ち、ローヤルゼリーに1～1000倍量の水を加え、水可溶分と水不溶分に遠心分離により分けた場合、水不溶分には殆ど抗疲労作用が見られないのに対し、水可溶分のこの活性は著しく高まることがわかった。即ち、この様に水を加えた後、不溶分を取り除くことにより、ローヤルゼリー中の抗疲労成分を濃縮することが可能であることを見いだした。ここで、加える水の量であるが、生のローヤルゼリーに対して、好ましくは1～1000倍、更に好ましくは10～100倍である。これは水が少なすぎると有効成分が溶出せず、多すぎると製

造に時間がかかり、これが有効成分の劣化を招く場合があるからである。ここで、水可溶分と水不溶分とを分離する手段であるが、この様な手段としては、例えば、連続式或いはバッチ式の遠心分離、ミリボアフィルターや限外濾過膜（但し分子量10000以下用のもの）による濾別などが挙げられる。この中では、吸着などによる目減りが少ない遠心分離が特に好ましく例示できる。この場合の遠心分離条件は、1000～10000000 r. p. m. で、バッチ式であれば30分程度が好ましい。

【0008】（水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程）水溶性成分中では、本発明の主題である、分子量20000～100000の抗疲労作用を有する蛋白以外に、更に高分子量の蛋白が存在することを本発明者は種々の検討の結果、見いだした。従って、上記の水不溶分除去工程のみではこの様な高分子量の蛋白は除くことはできない。本工程は、上記の水不溶分除去工程を補完して該高分子量の蛋白を除く工程である。この様な高分子量の蛋白と本発明の主題の有効成分である蛋白の決定的な差異は、分子量であり、この様な高分子量の蛋白は、本発明の主題である蛋白が通過し、該高分子量蛋白が通過できないボアサイズの限外濾過膜を使用した限外濾過によって除去することができる。この様な限外濾過膜としては、分子量70000～150000用の限外濾過膜が好ましく例示できる。勿論、この様な限外濾過を用いなくとも、この様な成分はゲル濾過により、取り除くことができ、この様な方法も本発明の技術的範囲に属するが、作業効率、産業応用性を考えると限外濾過を用いるのが特に好ましい。

【0009】本発明のローヤルゼリーの精製法は上記1) 非水溶性成分を除く工程と、2) 水溶性の成分であって、高分子量の成分を除く工程の2つの工程を含むことを特徴とする。この2つの工程の順番は特に限定されないが、精製効率と作業効率の面で、濾過膜の目詰まりなどを抑制できることから、1) ローヤルゼリーに過剰の水を加え、沈殿を取り除く工程を第一工程とし、2) 水性溶液を分子量70000～150000用の限外濾過膜で濾液を得る工程を第二工程として行うのが特に好ましい。更に、第二工程で得られた濾液を濃縮するとローヤルゼリーの精製物を固体として得ることができるが、この際、本発明の主題である有効成分である蛋白の分子量が20000～100000であることを利用して、分子量18000～22000用の限外濾過膜で、濾過成分を除き濃縮する工程を加えると、濃縮の効率が上がり、しかも必要なエネルギーが少なくなるので好ましい。加えて、低分子量の蛋白や非蛋白も除去できる長所も有する。この濃縮物を減圧溜去や凍結乾燥などにかけることにより、本発明のローヤルゼリー精製物を得ることができる。かかるローヤルゼリー精製物は、抗疲労作用に優れており、抗疲労用の、食品などの組成物

の原料として好適である。この様なローヤルゼリーの精製物が、本発明のローヤルゼリー精製物である。

#### 【0010】（2）本発明の抗疲労用の組成物

本発明の抗疲労用の組成物は、上記精製法によって得られた、本発明のローヤルゼリーの精製物を含有することを特徴とする。本発明の抗疲労用の組成物としては、医薬組成物、飲料組成物、食品組成物、化粧品組成物などが例示できるが、これらの中で特に好ましいものは、食品組成物と化粧品組成物であり、中でも食品組成物が特に好ましい。これは、本発明のローヤルゼリー精製物中の有効成分である蛋白が、この様な系では特に安定に含有させることが可能だからである。本発明の組成物において、上記ローヤルゼリー精製物の好ましい含有量は、0.1～60重量%であり、更に好ましくは、0.5～40重量%である。本発明の組成物では、必須成分である、上記ローヤルゼリーの精製物以外に、これらの組成物で通常使用される任意の成分を含有することができる。かかる任意成分としては、例えば、化粧品であれば、スクワラン、ワセリン、マイクロクリスクリンワックス等の炭化水素類、ホホバ油、カルナウバワックス、オレイン酸オクチルドデシル等のエステル類、オリーブ油、牛脂、椰子油等のトリグリセライド類、ステアリン酸、オレイン酸、リチノレイン酸等の脂肪酸、オレイルアルコール、ステアシルアルコール、オクチルドデカノール等の高級アルコール、スルホコハク酸エステルやポリオキシエチレンアルキル硫酸ナトリウム等のアニオン界面活性剤類、アルキルベタイン塩等の両性界面活性剤類、ジアルキルアンモニウム塩等のカチオン界面活性剤類、ソルビタン脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセライド、これらのポリオキシエチレン付加物、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等の非イオン界面活性剤類、ポリエチレングリコール、グリセリン、1,3-ブタンジオール等の多価アルコール類、増粘・ゲル化剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、色剤、防腐剤、粉体等が好ましく例示でき、食品であれば、調味料、香料、抗酸化剤、防腐安定剤、乳化剤、増粘剤、結合剤、分散剤、賦形剤、増量剤、甘味料、酸味料、被覆剤、色剤等が好ましく例示でき、医薬であれば、緩衝塩、分散剤、可溶化剤、結合剤、崩壊剤、等張剤、被覆剤、安定化剤、滑沢剤等が好ましく例示できる。本発明の組成物は、これらの成分を常法に従って処理することにより製造することができる。かくして得られた、本発明の組成物は、過剰な運動などをした場合に、速やかにその疲労を取り除いたり、或いは運動中に疲労が蓄積するのを防ぐ作用、即ち、抗疲労作用を有し、この様な疲労回復や疲労蓄積抑制に特に好適である。

#### 【0011】

【実施例】以下に、実施例を挙げて、本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明が、これら実施例にの

み限定を受けないことは言うまでもない。

【0012】＜実施例1＞ローヤルゼリー1Kgを精製し、本発明のローヤルゼリー精製物を0.15Kg得た。即ち、ローヤルゼリー1Kgに15lの水を加え、良く攪拌し、一様に分散したのを確かめて、10000r.p.m.で30分間遠心分離し、上清を集めた。この上清を分子量100000の限外濾過膜を通し、通過部を集め、更にこの溶液を分子量20000の限外濾過膜を通し、不通過部分を集め、これを減圧濃縮し、本発明のローヤルゼリー精製物1を0.15Kg得た。

【0013】＜実施例2＞上記本発明のローヤルゼリー精製物1を餌(CE-2)に5重量%混ぜ込み、これをddyマウス(雄性、1群10匹)に2週間自由摂取させた。対照群はCE-2のみ、比較例1群はローヤルゼリー精製物1をその原料であるローヤルゼリーに置換したものをを用いた。これらのマウスを流速8l/分の流水槽で強制遊泳試験を行った。測定項目は遊泳時間で7秒以上息継ぎができない時点を遊泳の終点とした。強制遊

結晶セルロース  
デンプン  
ヒドロキシプロピルセルロース  
ローヤルゼリー精製物1

【0015】＜実施例4＞実施例3の錠剤を用いて、疲れやすい人1群10人を用いて、抗疲労作用を実使用により確かめた。即ち、錠剤(100mg錠)を1回2錠1日3回3週間服用してもらい、疲労感の改善をアンケートにより答えてもらった。対照群は精製物1を結晶セルロースに置換したもの、比較例2群は原料である生ローヤルゼリーに置換したものを服用してもらった。疲労の改善率は精製物1投与群が40%であったのに対し、

ローヤルゼリー精製物1  
グリセリン  
1,3-ブタンジオール  
エタノール  
ヘパリン類似物質  
硫酸化トレハロース  
メチルパラベン  
水

【0017】

【発明の効果】本発明によれば、ローヤルゼリーの有し

泳試験の実施はサンプル投与前と投与終了の24時間後であった。サンプル投与後の平均遊泳時間をサンプル投与前の平均遊泳時間で除し、抗疲労インデックスとした。本発明のローヤルゼリー精製物の投与群のインデックスが1.98であったのに対し、対照群のそれは0.83、比較例1のそれは1.72であった。これより、本発明の精製法により、抗疲労作用を有する有効物質が精製物に濃縮されていることがわかる。

【0014】＜実施例3＞下記に示す処方に従って、錠剤(健康食品)を作製した。即ち、処方成分をグラッド造粒装置で、20%エタノール水溶液20重量部を噴霧しながら流動相造粒し、これを40℃で48時間送風乾燥し、1重量部のステアリン酸マグネシウムを加えて打錠し錠剤を得た。これにシェラック20重量部をエタノールに溶解して、糖衣パンを用いてコーティングした。更に30重量部の白糖をコーティングし、糖衣錠を得た。

20重量部  
15重量部  
4重量部  
10重量部

比較例2群が30%、対照群が10%であった。これより、本発明のローヤルゼリー精製物が優れた抗疲労作用を有していることがわかる。

【0016】＜実施例5＞下記に示す処方に従って化粧水を作製した。即ち、処方成分を攪拌可溶化し、化粧水を得た。このものは、肌の疲労を改善し、みずみずしい肌にする作用に優れていた。

0.1重量部  
5重量部  
5重量部  
5重量部  
0.1重量部  
0.1重量部  
0.2重量部  
84.5重量部

ている有効成分の濃度を高め、より有用なローヤルゼリー精製物の製造法を提供することができる。

フロントページの続き

(72)発明者 宮崎 博隆  
神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
化成工業株式会社戸塚研究所内

(72)発明者 福田 寿之  
神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
化成工業株式会社戸塚研究所内

(72)発明者 福島 信  
神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポーラ  
化成工業株式会社戸塚研究所内

Fターム(参考) 4B018 MD76 MF01 MF06  
4C083 AA071 AA072 AC102 AC122  
AC482 AD212 AD242 AD262  
AD282 AD312 CC04 DD15  
EE50 FF01